

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Menurut organisasi kesehatan dunia WHO, kematian akibat PTM (Penyakit Tidak Menular) akan meningkat di seluruh dunia. Lebih dari dua per tiga (70%) populasi global akan meninggal akibat penyakit tidak menular seperti kanker, penyakit jantung, stroke, dan diabetes. Menurut data WHO (*World Health Organization*) tahun 2012, 82% kematian karena penyakit degeneratif di seluruh dunia disebabkan oleh 4 penyakit utama yaitu kardiovaskular (46,2%), kanker (21,7%), penyakit pernapasan, termasuk asma dan penyakit paru obstruktif kronik (10,7%) dan diabetes (4%) (WHO, 2014).

Berdasarkan Data Riset Kesehatan Dasar 2013, Badan Litbangkes Kementerian Kesehatan RI dan Data Penduduk Sasaran, Pusdatin Kementerian Kesehatan RI, prevalensi penyakit kanker pada penduduk semua umur di Indonesia tahun 2013 sebesar 1,4‰ atau diperkirakan sekitar 347.792 orang. Penyakit kanker serviks dan payudara merupakan penyakit kanker dengan prevalensi tertinggi di Indonesia pada tahun 2013, yaitu kanker serviks sebesar 0,8‰ dan kanker payudara sebesar 0,5‰. Sedangkan prevalensi untuk penyakit kanker prostat di Indonesia pada tahun 2013 yaitu 0,2‰ atau diperkirakan sebanyak 25.012 orang (Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, 2015).

Kanker adalah pertumbuhan sel yang tidak terkendali. Kanker mengalami proses *multistep* yang dimulai dengan peristiwa perubahan atau kerusakan gen atau mutasi. Gen yang mula-mula terkena adalah proto-onkogen, *tumor supressor gen* atau gen apoptosis sehingga dapat terjadi

aktivasi proto-onkogen menjadi onkogen atau inaktivasi gen supresor atau gen apoptosis. Gen apoptosis adalah gen yang memprogram kematian sel. Onkogen adalah suatu gen abnormal yang peningkatannya merupakan suatu patologi yang menyebabkan terjadinya aktivasi protein terutama protein yang berperan dalam pembelahan sel sehingga terjadi degenerasi keganasan (Aziz, Andrijono dan Saifuddin, 2006).

Transformasi sel karena mutasi gen ini menghasilkan sel tumor. Sel tumor adalah sel tubuh kita sendiri yang mengalami transformasi sehingga bentuk, sifat dan kinetiknya berubah mengakibatkan tumbuhnya menjadi autonom, liar, tidak terkendali dan terlepas dari koordinasi pertumbuhan normal sehingga timbul tumor yang terpisah dari jaringan tubuh normal. Untuk dapat tumbuh, tumor memerlukan pasokan darah yang cukup. Sel-sel kanker dapat memproduksi sendiri faktor pertumbuhan, angiotropin, dan *angiogenic peptide* yang dapat merangsang pertumbuhan pembuluh (angiogenesis) sehingga dapat timbul pembuluh darah baru (neovaskularisasi). Diperkirakan perfusi hanya mencukupi sampai sejauh 10-15 lapisan sel dari kapiler yang terdekat. Di luar itu perfusi sel tidak cukup untuk hidup dan sel menjadi nekrosis. Untuk tetap hidup, sel kanker dapat memproduksi angiotropin yang merangsang angiogenesis yaitu pembentukan pembuluh darah baru ke arah tumor (Sukardja, 2000).

Salah satu faktor yang mempunyai efek biologik berskala luas yaitu menginduksi multiplikasi sel, menghambat kematian sel dan kemotaksis adalah *platelet-derived growth factor*. Salah satu anggotanya adalah *vascular endothelial growth factor* (VEGF). Efeknya yang spesifik yaitu migrasi sel endotelium dan efek multiplikasi menempatkannya sebagai faktor yang penting sebagai promotor angiogenesis. Dengan meningkatnya VEGF ini, dapat terbentuk angiogenesis dan meningkatnya massa tumor (Aziz, Andrijono dan Saifuddin, 2006).

Proses angiogenesis mirip dengan proses invasi kanker. Pada fase pre-angiogenesis, kanker itu hanya merupakan gerombolan kecil sel-sel karena pertumbuhannya dibatasi oleh pasokan nutrisi dan oksigen. Setelah terbentuknya neovaskularisasi, sel kanker baru dapat tumbuh dalam 3 dimensi. Invasi sel kanker dalam pembuluh darah dapat terjadi saat pembentukan pembuluh darah itu (Sukardja, 2000).

Proses angiogenesis setidaknya terdiri dari 4 tahap yaitu regresi parasit, penambahan aktivitas endotelium, lisis matrix vaskuler dan pembentukan jaringan vaskuler baru. Sel endotel pembuluh darah dirangsang untuk mengadakan proliferasi, mengadakan lisis membran basal dan matrix pembuluh darah. Ada beberapa protein yang dapat merangsang angiogenesis, salah satunya adalah FGF (*Fibroblast Growth Factor*) (Sukardja, 2000). Ada 2 macam FGF, *acidic* FGF dan *basic* FGF. *Acidic* FGF dan *basic* FGF dikeluarkan oleh sel tumor dan terikat dengan matriks ekstraseluler dan FGF yang terikat ini dapat terlepas bila berikatan dengan *binding protein*. *Binding protein* ini diekspresikan dan disekresi dalam kadar yang tinggi pada jaringan karsinoma skuamosa (Aziz, Andrijono dan Saifuddin, 2006).

Pada penelitian untuk menguji ekspresi VEGF pada tumor menunjukkan bahwa VEGF diekspresikan dan disekresikan dengan cepat oleh sel tumor dan diakumulasikan ke sekitar kapiler lama maupun baru. Sedangkan dari penelitian dengan memakai model binatang dan jaringan tumor, terlihat bahwa reseptor VEGF tidak terdapat pada endotel pembuluh darah normal namun ekspresi reseptor ini nampak pada pembuluh darah yang menembus tumor atau yang berdekatan dengan tumor. Sel tumor mensekresi faktor yang menginduksi dua reseptor tersebut pada sel endotel manusia. Salah satu faktor tersebut adalah bFGF (Aziz, Andrijono dan Saifuddin, 2006).

Prinsip suatu tanaman bisa digunakan sebagai antikanker adalah apabila tanaman tersebut mengandung senyawa sitotoksik. Biji *Nigella sativa* (jintan hitam) mengandung dua golongan senyawa utama yaitu terpen dan alkaloid. Terpen-terpen tersebut terutama adalah *thymoquinone* dan polimernya (seperti *dithymoquinone*), *p-cimene* dan *α-pinene* (Nurani, 2012). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Mokashi (2004) *thymoquinone* dari biji *Nigella sativa* terbukti memiliki sifat sitotoksik pada sel tumor manusia. *Thymoquinone* dipercaya mampu menginduksi apoptosis dan memperlambat siklus sel yang terjadi.

Banyak parameter untuk mendeteksi angiogenesis. Salah satunya adalah COX-2 (*Cyclooxygenase-2*). COX-2 adalah isoform terinduksi yang diregulasi oleh faktor pertumbuhan dan sitokin yang berbeda seperti $IL1\beta$, $IL6$, atau $TNF\alpha$ karena ekspresi yang berlebihan selama masa inflamasi. COX-2 menjadi target yang lebih dipilih karena mempunyai sisi aktif yang berbeda untuk NSAID (*Non Steroid Anti Inflammation Drug*). PGE_2 (prostaglandin E_2) dan COX-2 mempunyai peran penting dalam progresivitas tumor dan meningkatkan proliferasi sel, ketahanan sel dan invasi tumor. Kombinasi selektif COX-2 inhibitor dengan obat antikanker sudah diuji secara klinis dalam usaha meningkatkan protokol antikanker (Sobolewski *et al.*, 2009).

COX-2 mempunyai fungsi antara lain memberikan stimulasi pada proses angiogenesis dan vasodilatasi dan meregulasi proses diferensiasi angioblast. Banyak tumor baik pada hewan maupun manusia mengalami peningkatan jumlah COX-2 jika dibandingkan dengan jaringan normal. Peningkatan jumlah COX-2 berkontribusi dalam proses karsinogenesis dengan memodulasi metabolisme xenobiotik, apoptosis, pengawasan imun dan angiogenesis (Abeloff *et al.*, 2004).

Ada beberapa macam terapi kanker yaitu terapi utama, terapi tambahan, terapi komplikasi, terapi bantuan dan terapi sekunder. Radioterapi adalah salah satu terapi utama kanker. Radioterapi ialah terapi untuk menghancurkan kanker dengan sinar ionisasi. Kerusakan yang terjadi akibat sinar tidak terbatas pada sel-sel kanker saja tetapi juga pada sel-sel normal di sekitarnya walaupun kerusakan pada sel kanker umumnya lebih besar dari sel normal. Karena itu perlu diatur dosis radiasi sehingga kerusakan jaringan yang normal minimal dan dapat pulih kembali. Hal ini menuntut adanya terapi lain yang lebih aman dalam pengobatan dan pencegahan kanker (Sukardja, 2000).

Dari penelitian yang sebelumnya oleh Irie (2007) menunjukkan bahwa COX-2 *inhibitor* mampu menekan pertumbuhan tumor dengan menghambat angiogenesis pada fase awal proses angiogenesis. Sudah ada obat sintesis, celecoxib, yang mampu menghambat pertumbuhan dari sel epitel dan hematopoietik dengan mencegah adanya ekspresi COX-2. Celecoxib adalah obat anti-inflamasi non steroid selektif siklooksigenase-2 (*cyclooxygenase [COX]-2 selective NSAID*). Celecoxib bersifat selektif untuk enzim COX-2 (Ekowati dkk., 2013). Pada penelitian Wei *et al.* (2004) mengatakan bahwa celecoxib selektif menjadi inhibitor siklooksigenase-2 sehingga dapat digunakan sebagai antitumor yang kuat dan dapat membantu meningkatkan efektivitas dalam mengendalikan pertumbuhan kanker dan metastasis. Penghambatan terhadap COX-2 dapat bermakna preventif sekaligus kuratif pada penyakit kanker. Celecoxib menghambat sel karsinoma melalui jalur COX-2-*dependent* dengan menurunkan ekspresi Bcl-2. Melalui jalur tersebut, celecoxib menginduksi apoptosis, menekan proliferasi dan mengurangi angiogenesis serta melemahkan invasi sel kanker.

Dosis ekstrak *Nigella sativa* yang digunakan dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Wati (2007) dengan menggunakan ekstrak *Gynura procumbens* sebagai antiangiogenesis. Hasil penelitian sebelumnya, dengan rentang dosis 75, 90, 110 µg mampu memberikan efek antiangiogenesis yang cukup baik.

Dari latar belakang di atas akan dilakukan penelitian terhadap ekstrak biji *Nigella sativa* untuk membuktikan ekspresi COX-2 pada membran korioalantois telur ayam berembrio setelah diinduksi dengan bFGF. Ekstrak biji *Nigella sativa* akan digunakan untuk memperlihatkan aktivitas hambatan terhadap angiogenesis dengan mengurangi ekspresi COX-2 pada sel terinduksi.

1.2. Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian ekstrak biji jintan hitam dapat menurunkan jumlah ekspresi COX-2 pada membran korioalantois telur ayam berembrio (TAB) yang diinduksi oleh bFGF?
2. Apakah dapat diketahui dosis efektif ekstrak biji jintan hitam terhadap jumlah ekspresi COX-2 pada membran korioalantois telur ayam berembrio (TAB) yang diinduksi oleh bFGF?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji jintan hitam terhadap jumlah ekspresi COX-2 pada membran korioalantois telur ayam berembrio (TAB) yang diinduksi oleh bFGF.
2. Untuk mengetahui dosis efektif ekstrak biji jintan hitam terhadap jumlah ekspresi COX-2 pada membran korioalantois telur ayam berembrio (TAB) yang diinduksi oleh bFGF.

1.4. Hipotesis Penelitian

1. Terdapat pengaruh pemberian kombinasi ekstrak biji jintan hitam berupa penurunan jumlah ekspresi COX-2 pada membran korioalantois telur ayam berembrio (TAB) yang diinduksi oleh bFGF.
2. Dapat diketahui dosis efektif ekstrak biji jintan hitam terhadap jumlah ekspresi COX-2 pada membran korioalantois telur ayam berembrio (TAB) yang diinduksi oleh bFGF.

1.5. Manfaat Penelitian

1. Dapat diketahui kinerja ekstrak biji jintan hitam sebagai antiangiogenesis melalui pengamatan ekspresi COX-2.
2. Telur ayam berembrio dapat dipakai sebagai model *in vivo* pada penelitian angiogenesis sebagai uji khasiat obat / tanaman obat.
3. Dapat diketahui khasiat ekstrak biji jintan hitam sebagai obat untuk mengatasi penyakit kanker.